

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
4. Januar 2001 (04.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/00802 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12N 15/00
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05853
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
23. Juni 2000 (23.06.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
199 29 365.1 25. Juni 1999 (25.06.1999) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): BASF-LYNX BIOSCIENCE AG [DE/DE]; D-69120 Heidelberg (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MACK, Matthias [DE/DE]; Mönchhofstrasse 3 C, D-69120 Heidelberg (DE). HERBSTER, Karin [DE/DE]; Kolpingstrasse 23a, D-76694 Forst (DE).
- (74) Anwalt: GOLDSCHIED, Bettina; BASF Aktiengesellschaft, D-67056 Ludwigshafen (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht:  
— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PARTIAL SEQUENCES OF THE GENES OF THE PRIMARY AND SECONDARY METABOLISM FROM *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* AND THEIR USE IN THE MICROBIAL PRODUCTION OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES

(54) Bezeichnung: TEILSEQUENZEN DER GENE DES PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLISMUS AUS *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* UND IHR EINSATZ ZUR MIKROBIELLEN HERSTELLUNG VON PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLITEN

(57) Abstract: The invention relates to methods of producing primary and secondary metabolites using genetically engineered organisms.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe gentechnisch veränderter Organismen.

WO 01/00802 A2

Teilsequenzen der Gene des Primär- und Sekundärmetabolismus aus *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit den Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe eines gentechnisch veränderten Organismus. Diese Erfindung besteht in Teilsequenzen von Genen, die anabolische und katabolische Enzyme aus *Corynebacterium glutamicum* kodieren, und aus ihrem Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Metaboliten.

- 15 Die Konzentrationen der Metabolite sind in lebenden Zellen gewöhnlich gut ausbalanciert und überschreiten nicht eine gewisse Grenze. Unter manchen Wachstumsbedingungen oder als Folge einer gentechnischen Veränderung können sie allerdings im Überschuß gebildet und in das Kulturmedium ausgeschieden werden. Für das Zellwachstum kann man relativ billige Stoffe als Kohlenstoffquelle verwenden. Mit Hilfe des biochemischen Potentials der Zellen (in den meisten Fällen mikrobiellen Ursprungs) oder der Enzyme lassen sich diese preiswerten Stoffe in ein breites Spektrum wertvollere Substanzen umwandeln. Zur fermentativen Herstellung von Metaboliten zu Verkaufszwecken setzt man insbesondere Mikroorganismen ein. Mikroorganismen lassen sich durch gentechnische Veränderung der Biosynthesewege in ihrer Biosyntheseleistung auf bestimmte Metabolite hin optimieren, und man erzielt dadurch höhere Syntheseleistungen. Gentechnische Veränderung meint hier, daß die Anzahl der Kopien oder die Geschwindigkeit der Transkription bestimmter Gene für bestimmte Synthesewege erhöht ist. Allerdings muß man die geeigneten Zielgene für diese Verbesserung zuerst identifizieren. Wir beschreiben nun im folgenden die Zielgene und Teilsequenzen davon, die durch Klonen der DNA und anschließende Sequenzierung mit dem Ziel der Stammverbesserung identifiziert wurden.

Ein Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 1 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 1 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 2 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 2 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

## 2

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 3 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 3 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

5

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 4 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 4 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

10

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 5 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 5 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

15

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 6 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 6 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

20

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 7 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 7 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

25

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 8 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 8 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

30

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 9 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 9 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

35

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 10 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 10 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

40

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 11 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 11 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

45

## 3

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht im Einsatz der Nucleotidsequenz SEQ ID NR. 1 oder SEQ ID NR. 2 oder SEQ ID NR. 3 oder SEQ ID NR. 4 oder SEQ ID NR. 5 oder SEQ ID NR. 6 oder SEQ ID NR. 7 oder SEQ ID NR. 8 oder SEQ ID NR. 9 oder SEQ ID NR. 10 oder SEQ ID NR. 11 zur Konstruktion genetisch modifizierter Mikroorganismen.

Die vollständigen Gene lassen sich mit Hilfe konventioneller Techniken wie Hybridisierung herstellen, wobei man von den oben  
10 offenbarten Genfragmenten ausgeht. Diese Gene lassen sich einsetzen zur Konstruktion rekombinater Wirtsorganismen, die die Biosynthese wertvoller Bioprodukte, wie Aminosäuren, Fettsäuren, Kohlenhydrate, Vitamine und Kofaktoren ermöglichen. Die biologische Aktivität dieser Gene wird im experimentellen Teil dieser  
15 Beschreibung offenbart. Mit Hilfe dieser Gene wird es möglich, Engpässe bei der Biosynthese von Bioprodukten zu umgehen und so die Syntheseleistung mikrobieller Systeme zu steigern.

Ein weiterer Gesichtspunkt dieser Erfindung besteht in einem  
20 Expressions-Vektor mit zumindest einem der oben erwähnten Polynucleotide. Der Expressions-Vektor verbindet funktionell eines oder mehrere dieser Polynucleotide mit regulatorischen Einheiten wie Promotoren, Terminatoren, ribosomale Bindungsstellen und dergleichen. Gewöhnlich gehören zu einem Expressions-Vektor weitere  
25 Einheiten wie Genmarker und Replikationsabschnitte.

Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in der mit einem Expressions-Vektor transformierten Wirtszelle.

30 Zur gentechnischen Veränderung kann man jeden beliebigen prokaryontischen Mikroorganismus verwenden, vorzugsweise *Corynebacterium*- und *Bacillus*-Arten, aber auch jeden beliebigen eukaryontischen Mikroorganismus, vorzugsweise Hefestämme der Gattung *Ashbya*, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* und *Hansenula*.

35

Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in einer Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die in folgenden Schritten besteht:

40 (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedingungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind; und

(b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

45 In den folgenden Beispielen wird die Erfindung detaillierter beschrieben.

## Beispiel 1

Herstellung einer Genombibliothek von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032

5

Die DNA aus dem Genom von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 läßt sich nach Standardmethoden gewinnen, die z.B. von Altenbuchner, J. und Cullum, J. (1984, Mol. Gen. Genet. 195:134-138) beschrieben sind. Die Genom-Bibliothek läßt sich daraus mit jedem

- 10 beliebigen Klonierungsvektor, z.B. pBluescript II KS- (Stratagene) oder ZAP Express™ (Stratagene), nach Standardvorschriften gewinnen (z.B. Sambrook, J. et al. (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press). Jede beliebige Fragmentgröße kann man dabei verwenden, vorzugsweise
- 15 Sau3AI-Fragmente mit einer Länge von 1 kb, die sich in Klonierungsvektoren mit verdautem BamHI einbinden lassen.

## Beispiel 2

- 20 Analyse der Nucleinsäuresequenzen der Genombibliothek

Aus der im Beispiel 1 hergestellten Genombibliothek kann man einzelne *E. coli*-Klone auswählen. *E. coli*-Zellen werden nach Standardmethoden in geeigneten Medien kultiviert (z.B. LB ergänzt

- 25 mit 100 mg/l Ampicillin), und danach läßt sich dann die Plasmid-DNA isolieren. Klont man Genomfragmente aus der DNA von *Corynebacterium glutamicum* in pBluescript II KS- (siehe Beispiel 1), läßt sich die DNA mit Hilfe der Oligonucleotide 5'- AATTAAC-CCTCACTAAAGGG-3' und 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3' sequenzieren.

30

## Beispiel 3

Computeranalyse der isolierten Nucleinsäuresequenzen

- 35 Die Nucleotidsequenzen lassen sich z.B. mit Hilfe des BLASTX-Algorithmus (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410) aneinanderfügen. Auf diesem Weg kann man neuartige Sequenzen entdecken und die Funktion dieser neuartigen Gene aufklären.

- 40 Beispiel 4

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Fettsäuresynthase (2.3.1.85)

- 45 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde, an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

## 5

Sequenz, wie sie mit SEQ ID NR. 1 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) ergab diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäuresynthasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit war mit einem Fragment mit 519 Basenpaaren für die Fettsäuresynthase aus *Corynebacterium ammoniagenes* gegeben (NRDB Q04846; 68% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 5

10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Phytoen-Dehydrogenase (EC 1.3.-.-)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 2 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Phytoen-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Phytoen-Dehydrogenase aus *Methanobacterium thermoautotrophicum* (NRDB O27835; 37% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 6

25

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Alkohol-Dehydrogenase (EC 1.1.1.1)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 3 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Alkohol-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Alkohol-Dehydrogenase aus *Bacillus stearothermophilus* (NRDB P42327; 50% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 7

40

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferase (EC 2.6.1.62)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

## 6

Sequenz, die als SEQ ID NR. 4 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 342 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Adenosylmethionin-8-amino-7-oxononanoat-Aminotransferase aus *Erwinia herbicola* (NRDB P53656; 40% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## 10 Beispiel 8

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Phosphoglycerat-Mutase 2 (EC 5.4.2.1)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 5 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Phosphoglycerat-Mutasen 2 aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 204 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Phosphoglycerat-Mutase 2 aus *Mycobacterium tuberculosis* (NRDB P71724; 54% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## 25

## Beispiel 9

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Xylulose-Kinase (EC 2.7.1.17)

## 30

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 6 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Xylulose-Kinasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 633 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Xylulose-Kinase aus *Streptomyces rubiginosus* (NRDB P27156; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für eine Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren (EC 6.2.1.3)

## 7

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 7 beschrieben ist. Bei der Anwendung  
5 des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäure-CoA-Ligasen für langkettige Fettsäuren aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 369 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren aus *Archaeoglobus*  
10 *fulgidus* (NRDB 030302; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 11

15 Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Guanosinpentaphosphat-Synthetase

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene  
20 Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 8 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Guanosinpentaphosphat-Synthetasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus  
25 606 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Guanosinpentaphosphate-Synthetase aus *Streptomyces coelicolor* (NRDB 086656; 70% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 12

30 Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein NTRB-Homologes

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene  
35 Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 9 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit NTRB-Homologen aus verschiedenen Organismen. NTRB  
40 ist ein Regulatorgen für die Transkription, das an der Regulierung der Stickstoffassimilation beteiligt ist. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 645 Basenpaaren bestehenden Fragment für NTRB aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q50049; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).



## Beispiel 13

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifS*-Homologes enthält

5

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 10 beschrieben ist. Bei der Anwendung  
10 des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifS* aus verschiedenen Organismen. *NifS* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 594 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifS* aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49690; 62% Übereinstimmung auf  
15 der Stufe der Aminosäuren).

## Beispiel 14

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifU*-Homologes ent-  
20 hält

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine  
25 Sequenz, die als SEQ ID NR. 11 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifU* aus verschiedenen Organismen. *NifU* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 339 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifU*  
30 aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49683; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

## Sequenzliste

## 35 (I) Allgemeine Angaben

## (1) Anmelder:

(A) Name:	BASF-LYNX Bioscience AG
40 (B) Straße:	Im Neuenheimer Feld 515
(C) Stadt:	Heidelberg
(D) Land:	Deutschland
(E) Postleitzahl:	69120
(F) Telephon:	06221/4546
45 (G) Telefax:	06221/454770

9

(2) Titel: Sequenzen der Gene für den Primär- und Sekundärmetabolismus im *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

(3) Anzahl der Sequenzen: 11

(4) Art der mit dem Computer lesbaren Form:

10

(A) Datenträger: Diskette  
(B) Computer: IBM PC kompatibel  
(C) Betriebssystem: Windows NT  
(D) Software: Microsoft® Word 97 SR-1

15

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 1:

(1) Sequenzcharakteristika:

20 (A) Länge: 693 Basenpaare  
(B) Art: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear

25 (2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

30

(A) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 1:

35 CTGTTNCCCGGGGATCAGATTCACNGGGTCNGCCAGTGAAGTCGACGGTGATTGGCGCGGATGC  
TGCCTGCTCGCGAACAGTGGAAGTTGCCTGGGACAGCAGTTTCTCTGCAATTTCTTGGGTGGAGT  
AGGTTTCCACGCCTGCTTCTTCAGCTGCCTTGACCAAAGGATCGTTGCCGCCCATGAGGCCGGTG  
CCGCGAACCCAACCGATGTGAGCGTGCACGAGGGAGGTGTGTGCTCCCCATGCAGCTTGCTCTGC  
GTTCCAACGGGTAACCACGGCGTCGAGAGCTGCCTTGGATTACCGTATGCACCATCGCCACCGA  
40 AGCGTCCACGGTTTTGGTGAACCTGGGATGACCACGTGCAGGCGGTGACCCACGTTGATGGAGGAG  
CCCAATGGCGCAAGACCTGCGATGAGGCGCTCAACAGACCAGAGCAGAAGTCGCATCTGGGATTCT  
TGCTGTGGCCTGCATCTGCATGGATCCGGACACGCGAGGTGCCGCGAATGGGAACAGCAAGGTAN  
GGACCAAACCTGGCTTGACCAGCTTGATGCNCGTGACGGNGGTGGCTGTGATCCACCCAGTTGA  
TGATGGCTCGATGTCTGATANGACTAAGTTACCGCACGATCACAGTGCTGCCTGCCGNTGCCGAA  
45 CGTCCTANNANTCTTGAGAATTCAGCCGNTGGCCGAGTTGAN

10

(I) Angaben zu SEQ ID NR. 2:

(1) Sequenzcharakteristika:

- 5 (A) Länge: 1869 Basenpaare  
(B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear  
(2) Molekülart: DNA  
10 (3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein  
  
(5) Herkunft:  
  
15 (B) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 2:

ACAATCAATGTCATGACCAGCGGTGATCCAAAATTAATTACGCTTCGTTCCCGCAATAACAAAGT  
20 TGTGCAAATAACAGATGCCCCGTGATCGTGCTTTCATTAAGCAGGCTGATGAGCTGATCGTGAAGA  
TCGACAAACTGCTTGAGAGCAAAAGAAAAAGTCCCGTTAAGTCCGATCCACACTGTTGTCCCCG  
CGGAGACGCTTGAGCACGTTTTCTGCAGAGATCAAACACATAGATACGCCCCACCCCTGGAAGTGT  
GGTGTACCTGCGTCATACAGGCCATCTACTTTGCGGGATTGTGTAGAACCCTAAAGAACGCCG  
ATTGTGCCAGGGTGTGTGAGGGGCCAATGGACCCGCCGCTCCAGGAGTTGTATCGGTCTGCGAAG  
25 TCGGCAGGGCCGATGGTGCCTGCACAACAATGCGGCTTTCCAAACCATCAATGCCAGCCCATCG  
CCCAATTTGAGCCACTGCTGCTATTGCGATCCGGCCCCACCATGTCAGATTCTTCTCCGTAAGCGG  
ACCCGTGACCAATGGAGACATCGGCGGGTACTGGGACCAGGATGAAGAGGTTCTCGTGGCCTTCG  
GGTGGGCATCGGAATCTGTTGCGGAGGTCTTGAGATCTAGATGGATTCTGAAGCCGGGAATTC  
TGGGGTGGAGCCGTCGAAAACCTTTGCGGAAATCTTCGTCCCAGTCGGAGGAAAAAGCAGGGTGTG  
30 CTCCCCCTTCACGCCTGCCAAAACCAGCACAGTACTGAGGCCGGGTGTTTGTCTTCCAGCTCG  
TCTCCGGCTTCGCGCACAAACGAAGCAGGTAGGAGTTGGGTTTCGGTGTGGTGCTGATCAGCGCAG  
CTGATCACGATATCGGCTTCGATGAACTCTGAGCCGACTTGGACGCCTGTGGCGTTTCGGCCTTG  
GGTGGTGATTGCGCTGACGGGGGTGCCGAGGTGGAGGACGGCGTCGTCGATAAGCGAAATTAGTG  
CCTTGATGAAGGCGGTGAAGCCGCCCTCGGGGATAGGAGACGCCTTGGACGAGGTCCGTGTGGCTC  
35 ATGAGGTGATAGAGCGCCGGGGTGTGCGAAGGGTCTGAGGAGAGGAAAAGTGCAGGGGTAGCTTAA  
GATTTGGCGCAGTTTTGTATCGCGGAATTGGGTGTTGACCTTGACTTTTAGCGAGGTGACAGGC  
TTGCTAGAAGTTTGGGTAAAAGGCGCAGCATGCCGGGGCTTAAGTATGGGATGAAGTTGGTGAAG  
TTGGTGTAGAGGAAGCCGTCGATGGCCAGGTGTAGACCTGTGTGGCGGAGTCGATATAGGTGCC  
CAGTTTGGCGCGCGCGCGGGTTCGCGGGATTGAAAAGCTCGGCCATCGCATCGATGTCGGAGG  
40 TGACGTGATGAATTGCGCGTGGTGTGTCGATGACGCGGTAGGCGGGTTCAAGTGGCAGAGGTGCG  
AGGTGGTGTGTCGATGGAGGTGCCGCAGAGCTTAAAGAAGTGGGACATGGCGTCGGGCATGAGGTA  
CCAGCTGGGGCCGGTGTCCCAGCGGAAGCCGTCGAGTTGGAAGGTCCCGGCGCGGCCGCCGAGGT  
GCTCGTTTTGTTCGACGAGGTGGACTTCATATCCTTCGCGTAAGAGCAGTGCGGTGGTGGCTAGT  
CCTGCTAGTCCCCCGCCGATGACCACTGCTTTTGTGATTTTGAACACTTCTTTCCACATTGCT  
45 TTGGTTGCCAGGCTGGCTTTTTTCATAGACGGCACCCGAATCCGCCCCGTTTTTTAAGTCTTCGAG

11

GGACGCGGATTCCAGGTTGTCCACGAGGCAACCGTAGAGATCGGTTCGCGGCGCGCACACCGGTTTC  
GCGCGCCAAATGGCAGCAGCGGAATGCTCAGCCGGGCGGCATCCAAATC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 3:

5

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1035 Basenpaare

(B) Typ: Nucleinsäure

10 (C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

(3) hypothetisch: nein

15 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(C) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

20

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 3:

ATGACCACTGCTGCACCCCAAGAATTTACCGCTGCTGTTGTTGAAAAATTCGTTTCATGACGTGAC  
CGTGAAGGATATTGACCTTCCAAAGCCAGGGCCACACCAGGCATTGGTGAAGGTACTCACCTCCG  
25 GCATTTGCCACACCGACCTCCACGCCTTGGAGGGCGATTGGCCAGTAAAGCCGGAACCACCATTC  
GTACCAGGACACGAAGGTGTAGGTGAAGTTGTTGAGCTCGGACCAGGTGAACACGATGTGAAGGT  
CGGCGATATTGTCCGCAATGCGTGGCTCTGGTCAGCGTGTGGCACCTGCGAATACTGCATCACCG  
GCAGGGAACTCAGTGCAACGAAGCTGAGTATGGTGGCTACACCCAAAATGGATCCTTCGGGCCAG  
TACATGCTGGTGGATACCCGTTACGCCGCTCGCATCCCAGACGGCGTGGACTACCTCGAAGCAGC  
30 ACCAATTCTGTGTGCAGGCGTGACTGTCTACAAGGCACTCAAAGTCTCTGAAACCCGCCCGGGCC  
AATTCATGGTGATCTCCGGTGTCCGGCGGACTTGGCCACATCGCAGTCCAATACGCAGCGGCGATG  
GGCATGCGTGTCAATTGCGGTAGATATTGCCGATGACAAGCTGGAACCTTGCCCGTAAGCACGGTGC  
GGAATTTACCGTGAATGCGCGTAATGAAGATTCAGGCGAAGCTGTACAGAAGTACACCAACGGTG  
GCGCACACGGCGTGCTTGTGACTGCAGTTCACGAGGCAGCATTTCGGCCAGGCACTGGATATGGCT  
35 CGACGTGCAGGAACAATTGTGTTCAACGGTCTGCCACCGGGAGAGTTCACAGCATCCGTGTTCAA  
CATCGTATTCAAGGGCCTGACCATCCGTGGATCCCTCGTGGGAACCCGCCAAGACTTGGCCGAAG  
CGCTCGATTTCTTTGCACGCGGACTAATCAAGCCAACCGTGAGTGAGTGCTCCCTCGATGAGGTC  
AATGGTGTGCTTTACCGCATGCGAAACGGCAAGATCGATGGTTCGTGGCGATTTCGTTTC

40 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 4:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1002 Basenpaare

45 (B) Typ: Nucleinsäure

(C) Strangtyp: Doppelstrang

12

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

(3) hypothetisch: nein

5 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(D) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

10

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 4:

AAGTGGAGCTCGCGCGCCTGCAGGTCGACACTAGTGGATCAGAGGCATACTCCGGCGGACTCACC  
TACTCCGGACACCCACTTGCAGTAGCACCCGCCAAGGCAGCGCTGGAGATTACGCGGAAGGAGA  
15 GATCATTCCACGCGTAGCTCGACTTGGCGCTGAACTGATCGAACCTCGCCTTCGTGAACTAGCGG  
AAGAAAACGTAGCGATCGCTGACGTGCGGGGCATCGGATTCTTCTGGGCAGTGGAGTTCAATGCA  
GACGCCACTGCCATGGCTGCCGGTGCTGCAGAATTCAAGGAACGCGGCGTGTGGCCGATGATCTC  
CGGCAACCGATTCCACATCGCGCCGCCGCTGACCACCACTGATGACGAATTGGTAGCACTGCTGG  
ACGCGGTGGAAGCTGCAGCCCAAGCTGTGAGCTGACCTTCGCTGGGGCGTTGTTCTAAGTTTTC  
20 TAGATAACAAGGCCAGCACAGACCACCATNTCTACGACCCCAAAAACCGACTCCAAGCTCCGCGG  
CGACNAANCCGCGCTCGCGCCACCGACCAAGCAGCCGGTCCAGGTTTAAAGATTTTGCTTTTCGA  
CGCTCCCCTCCACCTCATTCAATGCGGCGGAAGGGATTTCCTTGCAATGTTTAAGCCTATAGGAAA  
AAGTGTGTTGCATATCACCTTGTATTCCAACACTTGAGCGGGTAGANTGGGTGGTAACNACCCNG  
GGAAAGGGGGAAGACACCATGAGCATCNCCACNCACNTCCAAGCNCTCNCCACAGCANTCAACGC  
25 CATCNACAACCATTTGGNCAGCATGCTCNAACATNGTGTTNCNCCANAAACAATANANGGCNTNNA  
NCCCGACTCANNCNCTANAAANACNCCTTCACCACACGCCNCCTTCGNCCCCAAACCAAACCCCTCG  
CCNAAGCNCAACNCGCCACNCATNGCTCCCCNCCTCNTNNATACCTNCCNCCCTTCGGATATCN  
AGCANGCGCCNCACCGNTCATTTNCCN

30 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 5:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1007 Basenpaare

35 (B) Typ: Nucleinsäure

(C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

40 (3) hypothetisch: nein

(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

45 (E) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

13

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 5:

TCCCNATTGGGTACCTTACCTGGTACCCACCCGGGTGGAAAATCGATGGGCCCGCGGCCGCTCTA  
GAAGTACTCTCGAGAAGCTTTTTGAATTCTTTGGATCCGAGCTGAACACATGGGTGATGTTTTTT  
5 TGAACCAGCACTGAGGCTGCGCTGGCCGCCTGTTGAAAGCCCAGGTCAGACAGCTCTGTGTCCAA  
TTGTCCCTGCATTTCGGGACGTGGCGTTGTATTTCAGTCTGCCCCGTGTCGGAGCAGAATCAGGCGAC  
GAGTCACAGGACTACCTCTTAATCGTCCTCGTAGCCAGGCTCGTATTCAGCTGGCAAAGGTGGGA  
GTTTCATCAATGCTGTTCGATGTTGCGGATATCCGCCTCATCAGACCAGGAGGATNCACGCNTGAAG  
GTTTCAAGTCCTTCAATTTCAATGAGTGGGCAGTCNCGGTACAGACNATCCANTCCGTATAACTC  
10 GCGCTCTGCCTGTTCGCTGAACGTGGATAACAACCNATCCGTAGTCAAGGAGAACCCAAACNGTTTT  
CGCGGTTGCCTTCACGGCGCTTAGGCTCGAAACCAGCCTTGGTCATCTNCATCTTCGATCTCCTC  
NACAATGGCGCCACCTTGGCGCTCATTTGTCCGCAGATGCAACNACNAANCAATTCTCGTGATT  
GNCGATCACTGTCTNNAACATCCAATNACAGCGATGTCTNNCNGCCTTTCTTTTCNTGCCGCTGCT  
TTCGCCNCCATGGTCCCGAAGCCGATCGANTCCTCCATNTGCANATCAAAATTCNNTAAANCAGC  
15 TNCNTGTNGTTCCNCACCCNCTTTTTANGGTCCGAAACCNACCCTTNCNGAAANAATCCCCACGTC  
AACCTTCCCTNTTTCCCNCTANACCGGGTGATTTCNCCTACTTTNGGNTCGAATTTAAACTTTTNA  
NCANATTTCTCTNGTTTTTGGGCCTTGGGATCATTTCCCTATTTCGATCCTNCTGGTCAAAAATTG  
GGNTTNGGCTATTCTTCNCCACCCCCCANGGA

20 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 6:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 748 Basenpaare  
25 (B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA  
30 (3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

35 (F) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 6:

TTGANNCNTTNNNGGAGCTCCCCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCGACACGCTGAC  
40 ATCACCAGGCTGCAAATCAAGGCCAAGCGCAGCCGAGCATTATCTCCCGTGCCTGCAGCAACTT  
TCACTCCACCTGGAGTTGTTCCCGCAATCGCATTTGGGGCCAGGAGTTCAGGAAGTTCCACCTCA  
TGGCCCAGCGCCAAGGCAGCTAGATCGGTGCGCCACGCACGATCACGCGTGCTGTAGTAGCCCGT  
TCCAGAAGCATCACCATGGTTCGGTGACTTTGCGTCCGCGTCCCATCAAATGCCAGGTGAGGAAAT  
CATGAGGCAACATCACCGACGCCGTGCGCGCTGCATTTTCTGGTTCATGATCACGCATCCACCGC  
45 ATTTTGGTGGCAGTTAAAGAAGCAACATACACACTTCCCGTGGCATCTACCGCAGCCTGATCGCC  
GCCGATCTCCTCATTTGAGATCCAACGCAGCCTGGGCAGAACGAGTGTCATTCCATAACAACGCCG  
GGCGAACGATTTTCATCGTTTTTCATCCAACGCCACCATGCCGTGCTGCTGGCCTGCAATAGATACA

14

GCGTCCGCGCGTTCTAACAACCCCTCGGTAGCTTGATCCAGCGCAGCGATCCACGCACGTGGATC  
TACTTCGACCCGTTTCGGGGTGACTCGCGCGGCTTCGTCGATACCTGGCCGGTGGCGGCGTCACAA  
GCAAAGCCTTGCAGGAATGGGTGGGAACATATC

5 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 7:

(1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 648 Basenpaare  
10 (B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear  
(2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
15 (4) Antisense: nein  
(5) Herkunft:  
(G) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

20 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 7:

TGCAGCCCGGGGATCACCGACGCCAAGGCTACGTAGGAATCCCCTTCCCCGACACCATCGTGCG  
CATCGCAAACCCAGAAAACCTCGACGAAACCATGCCCGACGGCAGCGAAGGCGAAGTCCTAGTCA  
AGGGCCACAGGTGTTCAAGGGTTACCTCAACCAGGAAGAAGCCACCAAGAACAGCTTCCACGGC  
25 GAGTGGTACCGCACCGGCGACGTCGGAGTGATGGAAGAAGACGGGTTCATCCGCCTAGTTGCTCG  
CATCAAGGAAGTCATCATCACTGGCGGTTTCAACGTGTACCCAGCTGAGGTTGAAGAAGTCCTCG  
CAGAGCACCCAGACATTGAAGATTCCGCAGTCGTTGGTATCCCGCGTGAAGACGGCTCCGAAAAC  
GTCGTTGCTGCATCACTTTGGTGGGAAGGTGCAGCGCTGGATCCGGATGGCCTGAAGGAATTCGCC  
GCAAGAACCTACCCGCTCAAGGTTCCGCGCACTTTCTACCACTTTGAGGAGATGCCGCGGGATCA  
30 GATGGCAAGATTAGGCGTCGTGAAGTGCANGCGGAGTTGTTGAAGAACTCGGCAGTNACGCCGAT  
TAAGAGGTCAGTTTCCAAATGGCACCTTACCAATTGGNCTAGTTACCCCCANAAGCATTTTGAGGG  
TTCCACTTTTACCCAGTGGGNTGTGTGATCCTNT

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 8:

35

(1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 698 Basenpaare  
(B) Typ: Nucleinsäure  
40 (C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear  
(2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
45 (4) Antisense: nein

15

(5) Herkunft:

(H) Organismus:

*Corynebacterium glutamicum*

5 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 8:

GCAGCCCGGGGATCCTTGGTGNCACCACCCTGGACATGCTCAAGATGGAACAGCAAATCGACTC  
CCTGGCACCAGGCGATGCGAAGCGCTACATGCACCACTACAACCTCCCTCCATACTCCACCGGTG  
AAACCGGTTCGTGTGGGCTCACCAAAGCGCCGCGAAATCGGCCACGGTGCACCTTGCAGAACGCGCA  
10 GTTTTGCCAGTAATCCCATCCCGTGAGGAATTCCCATACGCAATCCGTCAGGTCTCTGAAGCTCT  
GGGCTCCAACGGCTCCACCTCCATGGGCTCTGTCTGTGCATCCACTCTGTCCCTGTACAACGCTG  
GTGTTCCACTGAAGGCACCTGTTGCAGGTATCGCCATGGGACTTGTTTCCGGTGAAATCGACGGC  
AAGACCGAGTACGTTGCACTGACCGACATCCTCGGCGCAGAAGACGCATTTCGGCGACATGGACTT  
CAAGGTTGCCGGCACCGCAGACTTCATACCGNACTTCAGCTGGACACCAAGCTGGACNGCATTC  
15 TTCAAGGTGCTCTCCGATGCGCTTGAGCANGCACGCGATNCCGACTGACATCTGAACACATGGCT  
GATGTATCAACGGACCTTGATGAGATGAGCAAGTTCGTTCTGCATACCACCGNGAAATCCCATGG  
CAAATCGNGACTGTTCGACCAAGGGTAGACATTACGCTTTACNATTCG

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 9:

20

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1159 Basenpaare  
(B) Typ: Nucleinsäure  
25 (C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
30 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(I) Organismus:

*Corynebacterium glutamicum*

35

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 9:

TTNANNCGTTTGGAGCTCCCCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCACACAAAATGATT  
AGATTGTGTGCGAATTCATCCAATTGCTGTCTATATGCAGTACGCATGGCAACACTATAAGGCGA  
40 TAATGGTATTTCTGCAGGCCATAAACACCCCTTTAAGATTGAATCACCTAATAATGGGGGATAGC  
CAACTATTGGCGGGGGTAAGT  
ATTAAATTAACACCCTCCGGAGTTTTCCATTTCTGCGCCTTTAGGAACAGTGGCATCCTCAGGA  
TCGTCCAACCAGCCATCTGGAAGTGCCACCTTTGCAGGAGCGCCCTGTGCACCTCGTGACCTTC  
CGGTCCTCTGCCTTGGCGGTGRAGTCAGCCCATGGTGCTAGGAGATCCTCAAGCTCCACATAGG  
45 TGGAACCTTGGCCAGATTGGAGCGGAATTCGCCGCCAACAGGGAAACCGCGCAGGTCCAACCCA  
TGTGCTTACGCAGATCGCGCAGCCCCCTTGGTTTCGCCATCATGCTGCATGAGGAGTTCTGCGTGG  
CGCAGGATGATTGGGTAACTTCGCCGAAGGTAGGCTCCTCTGGGATTTCTTCTCCACGAACAGC



## 16

AGCAGCAGCTCAGCAAAGAGCCAAGGCCTGCCCAGGCAACCACgGCCCAACCACGACGCCATCGC  
AGCCAGTTTGCTCCATCATGCGCGTTGCATCGGATGCCGCGAAAATATCGCCATTGCCCAAACT  
GGGATGCCCGGTATCTGCCAAATGCTCYTTTCAGGCGCGCGATCTYGTTCGAATCAGCCTCACC  
ATAGCGCTGCGCCGCGAGTGCGGGCGTGAAGCGCTACGGACTTCGCGCCGGCGTTCGACAGCAATGC  
5 GTCCAGCATCCAAGTGAGTATGGTGCTCATCATCAATACCAACGCGGAACCTTCACCGTCACCGGA  
ATGTCCGTGCCTTCCGTAGCCTTCACAGCCGCGGAAACGATGTTTTCAAACAAACGGCGCTTGTA  
AGGAATCGCAGAACC GCCACCCCGCGCGTGACCTTTGGAACCGGGCAGCCAAAGTTTCATATCAA  
TATGATCCCCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGG  
CCCCGTACCCAGCTTGTGTTCCAANGGNTCCAA

10

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 10:

(1) Sequenzcharakteristika:

- 15 (A) Länge: 761 Basenpaare  
(B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear

- 20 (2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

25

(J) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 10:

- 30 TTGAANCCTTANNGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCTCGATTCACT  
CGAGCTTGATGAAACTGTCAAGGTCGTTGCCTTCACTCACCAGTCCAATGTGACCGGTGCTGTGG  
CTGATGTTCCAGAGTTGGTTCGTCGTGCCAAGGCTGTGCGCGCTCTCACGGTGCTTGATGCGTGC  
CAGTCTGTTCTCATATGCCAGTGAATTTCCACGAGCTGGATGTAGATTTCTCTGCATTCTCTGG  
CCATAAGATGCTGGGACCTGCAGGCGTGGGCGTTGTGTATGCAAAGTCCCCAATCTTGATGAAC  
35 TGCCACCATTTTTGACTGGTGGTTCCATGATTGAAGTTGTCACCATGGAGGGTTCCACCTACGCT  
GCCGCACCTCAACGTTTTGAGGCCGCGCACGCAGATGACCAGCCAGGTTGTGGGCTTGGGTGCTGC  
CGTGACATGCTGAATGAAATCGGTATGGAAGCAATCGCAGCNGCATGAGCACGCATTGACTGCT  
TACGCGTTGGAAAAGCTCACGGCAATTAAAGGGACTAACCATTGCTGGTCCTTTTACTGTCAGAG  
CATCGCGNGGTGCAATCAGCTTCNGTGTGNANGGCATTACCNACACGATCTANGGCAAAGTGC  
40 TTGACCATCAGGGCGTGAATATTCCGNGTCGGGCACCACTGTGCGTGGGCCTGCACCGCANCATT  
GAACGTNCAATNGNANACAAGAGCATTTTTCTATCTCTATTACACC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 11:

45 (1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 791 Basenpaare

17

- (B) Typ: Nucleinsäure  
(C) Strangtyp: Doppelstrang  
(D) Topologie: linear
- 5 (2) Molekülart: DNA  
(3) hypothetisch: nein  
(4) Antisense: nein
- (5) Herkunft:
- 10 (K) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*
- (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 11:
- 15 TTGACCCCTTTAGCTGGGTACCGGGCCCCCCCCTCGAGGTTCGACGGTATCGATAAGCTTGATATCGA  
ATTCTGTCAGCCCGGGGATCTTCATCGCCAACAACTGACCGCGGGAAACGATCATCTTCTCAA  
ATTCTGTGAGCTTTTCCAGCGCCTTGTCGACGGGTGGCCCACGATCTCCTCGGCCATAACGGAC  
GTGGAGGCCTGGCTGATTGAGCAACCAACTGCTTCGTAGGAGACGTCCTCCACGGTGGAGCCGTC  
CTCAGACAGCTTCACGCGCAGAGTCAATTCGTCGCCACAAGAAGGGTTGACGTGGTGAACCTCAG  
20 CATCGAAAGGATCCCGAAGGCCCTTGCTGCTGTGGGTTTTTGTAGTGGTCCAGGATCACCTCCTGG  
TACATCTGCTCAAGGTTCACTCAACTCCAAAGAATTGCTTGCCCTTCTCGATCGCTGCCGCG  
AGGCGGTTCGATTTCTTCGAAGGTGTTATAGAGATAGAAAGATGCTCTTGCTGTCGATTGTACCGT  
TCATGCTGCGGTGCACGGCCACGCGCAGTGGTGGNCGACGCCGGATATTCACGCCCTGATCGTCA  
AGCACTTGCCCTAANCGTGTGGGTGAATGCCTCGACACCGAACTGATGCACCGGCGNCTGCTNTN  
25 CATCAAAAGGACCANCNATGGGTAAGTCCTTAATGCCGNGAGCTTTTCAACGCGTAAGCAGGTAA  
TGCNNCTATGCNCTGCGATGNTTTCATACCGATTNNTAAGANTNTCCCCGGNGTNCCCNANCCC  
NAACTGGTTN

30

35

40

45

## Patentansprüche

1. Ein gereinigtes Polynucleotid mit einer Nukleinsäuresequenz,  
5 die aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: SEQ ID NR. 1, SEQ ID NR. 2, SEQ ID NR. 3, SEQ ID NR. 4, SEQ ID NR. 5, SEQ ID NR. 6, SEQ ID NR. 7, SEQ ID NR. 8, SEQ ID NR. 9, SEQ ID NR. 10, SEQ ID NR. 11.
- 10 2. Ein Expressions-Vektor mit einem dem Anspruch 1 entsprechenden Polynucleotid.
3. Eine Wirtszelle, die mit dem Expressions-Vektor aus Anspruch 2 transformiert ist.
- 15 4. Eine Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die aus folgenden Schritten besteht:
- 20 (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedingungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind; und
- (b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

25

30

35

40

45